



**FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE RONDÔNIA
CÂMPUS DE PRESIDENTE MÉDICI
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE PESCA
CURSO DE ENGENHARIA DE PESCA**

VALDEIR TEODORO DE FARIAS SANTOS

**FREQUÊNCIA DE MICRONÚCLEOS EM TAMBAQUIS DE PISCICULTURAS NO
MUNICÍPIO DE PRESIDENTE MÉDICI – RO: influência de agrotóxicos**

Presidente Médici - RO

2015

VALDEIR TEODORO DE FARIAS SANTOS

**FREQUÊNCIA DE MICRONÚCLEOS EM TAMBAQUIS DE PISCICULTURAS NO
MUNICÍPIO DE PRESIDENTE MÉDICI – RO: influência de agrotóxicos.**

Monografia apresentada ao Departamento de Engenharia de Pesca da Fundação Universidade Federal de Rondônia – UNIR, como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Pesca.

Orientadora: Prof^a Dra. Fernanda Bay Hurtado

Coorientadora: Prof^a Dra. Rute Bianchini Pontuschka

Presidente Médici - RO

2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca Setorial 07/UNIR

S231f

Santos, Valdeir Teodoro de Farias.

Frequência de micronúcleos em tambaquis de pisciculturas no município de Presidente Médici – RO: influência de agrotóxicos / Valdeir Teodoro de Farias Santos. Presidente Médici – RO, 2015.

51 f. : il. ; + 1 CD-ROM

Orientadora: Profª Dra. Fernanda Bay Hurtado

Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia de Pesca) - Fundação Universidade Federal de Rondônia. Departamento de Engenharia de Pesca, Presidente Médici, 2015.

1. Colossoma macropomum. 2. Contaminação ambiental.
3. Genotoxicidade. 4. Teste de micronúcleo. I. Fundação
Universidade Federal de Rondônia. II. Hurtado, Fernanda Bay. III.
Título.

CDU: 639

Bibliotecário-Documentalista: Jonatan Cândido, CRB15/732



**FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE RONDÔNIA
CÂMPUS DE PRESIDENTE MÉDICI
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE PESCA
CURSO DE ENGENHARIA DE PESCA**

VALDEIR TEODORO DE FARIAS SANTOS

**FREQUÊNCIA DE MICRONÚCLEOS EM TAMBAQUIS DE PISCICULTURAS NO
MUNICÍPIO DE PRESIDENTE MÉDICI – RO: INFLUÊNCIA DE AGROTÓXICOS.**

**Este Trabalho de Conclusão de Curso foi aprovado pela banca examinadora do
curso de Graduação em Engenharia de Pesca constituída pelos seguintes
docentes:**

Profª Dra. Fernanda Bay Hurtado
Orientadora

Profª Esp. Fabiana Indira Loures Lira

Profª Dra. Jucilene Cavali

Profº Msc. Ricardo Henrique Bastos de Souza

Aprovado em: Presidente Médici - RO, 03 de julho de 2015.

Dedico esta monografia, a toda minha família, principalmente meus pais Margarida e Anísio pelo amor, incentivo, dedicação e compreensão durante esses cinco anos para que eu pudesse chegar até aqui e ser o primeiro da família a obter um título de graduação.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por ter me concedido a oportunidade de chegar aqui, me abençoado, me dado inteligência e me protegido nessa caminhada.

Aos meus pais, Anisio e Margarida, por terem me dado apoio durante esses longos cinco anos e por terem me dado educação e dignidade as quais me tornaram o homem que sou de hoje.

Aos meus irmãos Aldeir, Aldenizio e Aliete, que mesmo distantes, torciam por mim.

À minha noiva, Ramona, que sempre está ao meu lado em tudo, disposta a me ajudar e torce pelo meu sucesso.

À minha orientadora, profª. Dra. Fernanda Bay Hurtado, por ter aceitado me conduzir neste trabalho e pelo incentivo, atenção e paciência.

À minha coorientadora profª. Dra. Rute Bianchini Pontuschka, por também me conduzir nesse trabalho, por mostrar-se sempre disposta a me ajudar, admiro muito a senhora.

À minha amiga de trabalho, Mikelle Perboni, por ter me ajudado nas análises e que também sempre esteve presente ao longo desse trabalho.

À minha amiga de sala, Acsa Luxinger, pela ajuda na coleta de sangue, sem você eu não teria conseguido realizar esse trabalho, a sua ajuda foi de essencial importância, obrigado mesmo.

Aos meus amigos Fabiano, Robson e Geovanna pela ajuda em campo.

E por fim, as demais pessoas que não foram aqui mencionadas, mas que contribuíram direta ou indiretamente em mais uma etapa do caminho da minha realização profissional.

“Acredite em sua capacidade de vencer, mesmo quando ninguém mais acredita.”

Carlos Hilsdorf

RESUMO

O ambiente aquático atualmente sofre impactos ambientais causados pela ação humana, dentre esses impactos a contaminação por agrotóxicos. O teste de micronúcleo em peixes é um bioindicador de ambientes aquáticos e possibilita a detecção de efeitos genotóxicos provocados por vários agentes químicos e físicos, podendo ser utilizado para avaliação das condições ambientais. O presente trabalho objetivou avaliar possíveis efeitos genotóxicos em peixes de pisciculturas que utilizam agrotóxico na região de Presidente Médici - RO, por meio do teste do micronúcleo. O peixe coletado nas pisciculturas foi o tambaqui (*Colossoma macropomum*) por ser a espécie mais cultivada em cativeiro em Rondônia. Foram coletadas amostras de sangue periférico em tambaquis de 4 pisciculturas, assim como, a realização de suas biometrias. O número de células analisadas por peixe foram 3.000 eritrócitos. Os dados foram analisados estatisticamente pelo teste de Tukey em nível de 95%, ou análise de variância com um critério (ANOVA-ONE WAY). A relação peso - comprimento mostrou que os peixes não estavam em estado de bem-estar animal, pois as pisciculturas 2, 3 e 4 apresentaram $b < 3$, e a piscicultura 1 apresentou $b > 3$, tais pisciculturas utilizaram o herbicida glifosato na concentração de 7,5 mL de herbicida glifosato/L de água com o propósito de eliminar gramíneas e macrófitas aquáticas dos tanques de piscicultura, mudando somente a frequência de uso entre estas. Verificou-se uma correlação entre o uso do agrotóxico e o número de eritrócitos micronucleados nas pisciculturas, assim como as que recebem água contaminada através de lixiviação de outras culturas, evidenciando que substâncias poluentes são capazes de causar dano ao material genético do tambaqui. Observou-se também que a relação peso-comprimento e o teste de micronúcleo apresentaram correlação que pode ser útil para o biomonitoramento de ambientes contaminados.

Palavra chave: *Colossoma macropomum*. Contaminação ambiental. Genotoxicidade. Teste de micronúcleo.

ABSTRACT

The aquatic environment currently suffering environmental impacts caused by human action, among these impacts contamination by pesticides. The micronucleus test is a bioindicator fish aquatic environments and allows the detection of genotoxic effects caused by various chemical and physical agents may, and it may be used to evaluate environmental conditions. This study aimed to evaluate possible genotoxic effects in fish farms fish using pesticides in the region President Medici - RO, using the micronucleus test. The fish collected from fish farms was the tambaqui (*Colossoma macropomum*) for being the most cultivated species in captivity in Rondônia. Samples of peripheral blood in tambaquis from for fish farms were collected, as well as the fulfillment of their biometrics. The number of cells analyzed per fish were 3.000 erythrocytes. Data were analyzed statistically by the Tukey test at 95%, or analysis of variance with a criterion (ANOVA-ONE WAY). The length - weight relationship showed that the fish were not in animal welfare state, as fish farms 2, 3 and 4 had $b < 3$, and 1 fish farming presented $b > 3$ such fish farms used the herbicide glyphosate in the concentration of 7,5 mL of glyphosate herbicide/L of water in order to eliminate aquatic grasses and weeds piscicultura of tanks, only by changing the frequency of use among these. There was a correlation between the use of pesticides and the number of micronucleated erythrocytes in fish farms, as well as those receiving contaminated water through leaching from other cultures, showing that pollutants are able to cause damage to the genetic material of tambaqui. It was also observed that the length-weight relationship and the micronucleus test correlated which can be useful for biomonitoring of contaminated environments.

Key-words: *Colossoma macropomum*. Environmental contamination. Genotoxicity. Micronucleus test.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Exemplares de Tambaqui.	14
Figura 2 - Micronúcleo em células de eritrócitos de sangue periférico de <i>Colossoma macropomum</i> , corados com corante Panótico.	21
Figura 3 - Formação de micronúcleo em eritroblasto. (a) ação do agente clastogênico com quebra cromossômica. (b) ação do agente no fuso mitótico.	21
Figura 4 - Mapa de localização do município de Presidente Médici.	24
Figura 5 - Medidas biométricas. (A) Comprimento padrão. (B) Peso total.	26
Figura 6 - Coleta de sangue periférico por punção do vaso caudal de tambaqui.	26
Figura 7 - Gráfico de relação peso-comprimento, a e b das 4 pisciculturas.	29
Figura 8 - Frequência de micronúcleos em eritrócitos periféricos de tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>) coletados nas quatro pisciculturas da cidade de Presidente Médici, RO.	31
Figura 9 - Deformação de peixe coletado na piscicultura 2.	32
Figura 10 - Infestação de <i>Perulernaea gamitanea</i> na piscicultura 3.	33

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Uso do agrotóxico nas pisciculturas.....28

Tabela 2 - Equações e parâmetros a e b para as 4 pisciculturas.29

Tabela 3 - Variação no peso (kg) e comprimento total (cm) dos tambaquis nas pisciculturas amostradas.30

Tabela 4 - Frequência de micronúcleos (MN) em eritrócitos periféricos de tambaquis coletados nas pisciculturas.....30

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
1.1 <i>Colossoma macropomum</i>	13
1.2 Agrotóxicos e seus efeitos em ambientes aquáticos	15
1.3 O herbicida glifosato	17
1.4 Ecotoxicologia aquática	18
1.5 Teste de micronúcleo	19
2 OBJETIVOS	23
2.1 Objetivo geral	23
2.2 Objetivos específicos	23
3 MATERIAL E MÉTODOS	24
3.1 Entrevista estruturada	24
3.2 Locais de coleta	24
3.3 Avaliações biométricas	25
3.4 Coleta de sangue e procedimentos de análises	26
4 RESULTADOS	28
4.1 Agrotóxico nas pisciculturas	28
4.2 Avaliação biométrica	28
4.3 Teste de micronúcleos em tambaqui das pisciculturas	30
5 DISCUSSÃO	32
5.1 Relação peso-comprimento	32
5.2 Correção entre micronúcleos x agrotóxicos	34
5.3 Correlação entre relação peso-comprimento x micronúcleos	36
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	38
REFERÊNCIAS	39
APÊNDICE A	45
APÊNCIDE B	51

1 INTRODUÇÃO

A aquicultura é definida como a produção de organismos aquáticos tais como peixes, crustáceos, algas e moluscos, de forma individual, em grupos ou corporações usando intervenções como alimentação artificial, medicamentos, controle reprodutivo e contenções, aumentando dessa forma a produtividade (SAPKOTA et al., 2008).

O relatório da FAO “Estado das Pescas e Aquicultura Mundial 2012” revela que o setor pesqueiro produziu uma quantidade recorde de 128 milhões de toneladas de peixe para alimentação humana – uma média de 18,4kg por pessoa – fornecendo a mais de 4,3 milhões de pessoas cerca de 15 % do seu consumo de proteína animal. A pesca e a aquicultura são também uma fonte de rendimento para 55 milhões de pessoas (ROMA, 2012).

A aquicultura mundial cresceu consideravelmente durante a década passada e um crescimento adicional é esperado nos próximos anos em resposta ao crescimento populacional e consequente aumento na demanda por produtos de peixe. A produção da aquicultura mundial, em que se inclui a piscicultura, saltou de apenas 1 milhão de toneladas nos anos 1950, para 65,7 milhões de toneladas no ano de 2009, constituindo-se no setor de mais rápido crescimento em comparação aos outros setores na produção de alimentos (FAO, 2012).

Em relação à discriminação da piscicultura por espécies, em 2010 a tilápia e a carpa foram as mais cultivadas, as quais representaram 63,4% da produção nacional. Contudo, também merece destaque o grupo popularmente conhecido como peixes redondos (tambaqui, pacu, tambacu e outros), que juntos representaram 24,6% (BRASIL, 2012).

O Brasil tem potencial para aquicultura como poucos países do mundo, pela quantidade de águas marítimas e continentais (OSTRENSKY; BOEGER; CHAMMAS, 2008). O aproveitamento dos recursos hídricos existentes tem proporcionado o desenvolvimento da piscicultura, com a criação de peixes em tanques-rede, tanques escavados ou açudes. É uma alternativa de investimento de menor custo e maior rapidez de implantação, sendo apontada como um agronegócio capaz de melhorar as condições sociais, ambientais e econômicas de uma região. Além disso, o consumo de peixes é um dos segmentos alimentícios de mais rápido

crescimento do Brasil, tendo tido uma taxa de crescimento de 9% nos últimos seis anos (MPA, 2012).

No estado de Rondônia, a piscicultura também vem apresentando crescimento acelerado. Sendo tratada como o novo agronegócio da região, dado o desempenho impressionante da atividade nos últimos três anos, que apresentou crescimento de 300% no período (SNA, 2014).

Hoje a piscicultura já pode ser considerada essencial para a economia estadual. O polo de piscicultura da Região Central de Rondônia é a constatação desse crescimento. Nesta região estão concentrados 590 piscicultores licenciados e outros 600 em processo de licenciamento e, em 2011, a produção local alcançou 9,7 mil toneladas (SEBRAE, 2011).

Atualmente, a produção piscícola no estado de Rondônia está concentrada em uma espécie, o tambaqui (*Colossoma macropomum*), pelas suas características biológicas, rusticidade, facilidade de obtenção de alevinos, crescimento em cativeiro, boa adaptação ao ambiente de cultivo, além da boa aceitação no mercado.

1.1 *Colossoma macropomum*

A espécie *Colossoma macropomum*, conhecida por tambaqui, pertence à ordem Characiformes, família Serrasalminidae. É uma espécie nativa da bacia amazônica, ocorrendo no Brasil, Peru, Colômbia, Bolívia e Venezuela. Possui alto valor comercial, sendo muito apreciada pela população local. Também é uma espécie amplamente aceita em outras regiões, devido ao seu excelente sabor, consistência e coloração branca da carne e facilidade para obtenção de filés. (GOULDING; CARVALHO, 1982).

O tambaqui está disponível em grande parte dos supermercados brasileiros e tem sido exportado para países europeus, como Portugal e França. Em 2010, o Brasil produziu 54.313 toneladas, 17% a mais que no ano anterior (MPA, 2012). O maior centro de consumo de tambaqui, principal espécie nativa cultivada no Brasil, é a cidade de Manaus, que absorve anualmente cerca de 30.000 toneladas de tambaqui produzidos na região (LIMA; GOMES, 2005).

É um peixe de escamas com corpo romboidal, e em sua fase adulta apresenta manchas escuras irregulares ventrais e caudais, com dorso em tonalidade

esverdeada, podendo variar para mais clara ou mais escura dependendo da cor da água (LIMA; GOMES, 2005). (Figura 1).

Figura 1 - Exemplares de Tambaqui.



Fonte: O autor, 2014.

Outras características apresentadas pela espécie são: a rusticidade ao manuseio, tolerando atividades como biometrias e tolerância a ambientes com baixa disponibilidade de oxigênio (SAINT-PAUL; SOARES, 1988).

É onívoro com tendência zooplanctófaga, já em cativeiro, aceita bem rações extrusadas e peletizadas, bem com subprodutos industrializados o que, em conjunto com sua rusticidade, faz da espécie uma das mais utilizadas na piscicultura (LIMA; GOMES, 2005). Apresenta porte máximo de 45 kg e 100 cm de comprimento, e em ambiente natural realiza migrações reprodutivas atingindo maturação sexual entre 4 e 5 anos de idade (CARDOSO, 2001).

Além disso, essa espécie é bem adaptada às condições de cativeiro e muito usada nos sistemas intensivos em viveiros, tanques e tanques-rede (LIMA; GOMES, 2005). Goulding (1993) enfatizou que o tambaqui pode atingir mais de 2 kg em menos de um ano em cultivo em tanques escavados de baixa (ou nenhuma) renovação de água com produções de 4 a 10 t/ha/ano.

1.2 Agrotóxicos e seus efeitos em ambientes aquáticos

Atualmente a agricultura é altamente dependente do uso de agrotóxicos. A demanda cada vez maior desses produtos tem sido fomentada principalmente pela necessidade crescente de produção de alimentos gerada pela expansão da população mundial (JURADO et al., 2011). Os agrotóxicos podem ser divididos em três principais grupos: fungicidas, inseticidas e herbicidas. O último representa cerca de 45% dos agrotóxicos comercializados no mundo (QUASEM, 2011). Estudos mostram que menos de 0,1% da quantidade de agrotóxicos aplicados em lavouras alcançam os organismos alvo, enquanto o restante 99,9% tem potencial para se mover para outros compartimentos ambientais, tais como águas superficiais e subterrâneas (SABIK; JEANNOT; RONDEAU, 2000).

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), o Brasil é o terceiro maior consumidor de agrotóxicos do mundo e o primeiro na América Latina, devido ao grande aumento no cultivo de monoculturas (BRASIL, 2010). Mesmo em concentrações baixas os agrotóxicos afetam a estrutura e a função das comunidades naturais, provocando impactos em múltiplos níveis, que vão desde o molecular até o de comunidades inteiras, comprovando que as práticas agrícolas intensivas são altamente impactantes ao ambiente e estão diretamente relacionadas à redução da biodiversidade (GRISOLIA, 2005).

Quando o contaminante está presente no meio aquático, independentemente da sua concentração, os organismos podem apresentar processos de acumulação, chamados de bioconcentração ou bioacumulação, quando o foco é um determinado organismo; e biomagnificação quando aborda-se a cadeia trófica (COSTA; OLIVI, 2008). Mesmo em concentrações baixas, os agrotóxicos podem apresentar riscos para muitas espécies, podendo esses efeitos tóxicos serem transferidos para outros organismos da cadeia alimentar (GRISA; ORTIZ; GEREMIAS, 2008).

Assim, entre os contaminantes aquáticos decorrentes das atividades antropogênicas, os agrotóxicos são os mais perigosos, pelo fato de terem sido concebidos para eliminar alguma forma de vida, e atingirem também de modo letal espécies não-alvo (ALBINATI et al., 2009). Essas contaminações de recursos hídricos ocorrem frequentemente por carreamento através do solo após aplicação e a ocorrência de chuva, pela lavagem dos tanques de pulverização e por deriva após aplicação aérea (GRISOLIA, 2005).

Os agrotóxicos que se dissolvem na água podem ser degradados por fatores químicos, biológicos e/ou físicos, ou ainda permanecer como potenciais contaminantes, tornando-se disponíveis para peixes e outros organismos (MORAIS, 2009). Os efeitos deletérios ocasionados pela ação dos contaminantes nos organismos, especialmente aquáticos, se propagam pelos demais componentes dos ecossistemas. Esses efeitos podem provocar modificações nas características e dinâmica das populações (reprodução, migração, restabelecimento e mortalidade), na estrutura e função das comunidades (alteração na diversidade de espécies, modificações na relação predador presa) e na função do ecossistema, como alterações nos processos de respiração e fotossíntese e, no fluxo de nutrientes (COSTA; OLIVI, 2008).

Dentre os efeitos bioquímicos e fisiológicos provocados pelos agentes tóxicos pode-se destacar: modificações na permeabilidade das membranas celulares; interferência na produção de ATP; inibição de enzimas; distúrbios no metabolismo de lipídios; alterações nos sistemas enzimáticos microssomais, os quais são responsáveis pela biotransformação de agentes tóxicos; alteração na estrutura ou na atividade de enzimas que participam de processos reguladores, comprometendo a síntese e liberação de hormônios, bem como reduzindo a velocidade de crescimento dos organismos; distúrbios no metabolismo de carboidratos e distúrbios no processo respiratório pela inibição do transporte de elétrons e da fosforilação oxidativa (COSTA; OLIVI, 2008).

Os agrotóxicos presentes em corpos d'água podem penetrar nos organismos aquáticos através de diversas portas de entrada (exposição dérmica - superfície do corpo, principalmente pelas brânquias e oral - ingestão da água e de alimentos contaminados) (TOMITA; BEYRUTH, 2002). Os padrões de acumulação de xenobióticos são distintos para diferentes organismos e dependem do balanço entre a taxa de assimilação e as taxas de metabolização e eliminação dos compostos químicos (VICARI, 2009).

A produção de peixes é inteiramente dependente do ecossistema no qual está inserida, uma vez que os peixes vivem em contato estreito com o seu meio e, por isso, são afetados pelas mudanças causadas por diferentes agentes físicos, químicos e biológicos. Sendo assim, a exploração econômica dos peixes considerada um investimento, requer conhecimentos básicos dos principais fatores que direta ou indiretamente estejam ligados ao ambiente aquático (VALENTI, 2002).

1.3 O herbicida glifosato

Os organofosforados são lipossolúveis, sendo contaminantes potenciais para diversos tipos de alimentos. Possuem efeito tóxico mais agudo para seres humanos e outros mamíferos, porém são menos persistentes no ambiente e possuem menor capacidade de bioacumulação que os organoclorados. O principal efeito tóxico é a inibição da enzima acetilcolinesterase, essencial para a transmissão do impulso nervoso nas sinapses colinérgicas e placas motoras (GALLI, 2006).

Embora muitas mudanças e inovações surjam conforme as necessidades do mercado, entre elas o advento das culturas transgênicas resistentes a algumas pragas, o uso de herbicidas ainda é destacado, visto que a maioria destas inovações não impede o florescimento de ervas daninhas no campo. Atualmente, o herbicida glifosato (N-(fosfometil)glicina) é um dos mais utilizados, representando 60% do mercado mundial de herbicidas não seletivos, contabilizando um total de US\$ 1,2 bilhão/ano com vendas do produto (AMARANTE JR et al., 2002).

Considerando-se todos os produtos usados como agrotóxicos ou defensivos agrícolas o glifosato puro e suas formulações é o produto mais vendido no mundo para a agricultura moderna (PEIXOTO, 2005). É um herbicida pertencente ao grupo químico das glicinas substituídas, de ação pós-emergente, classificado como não-seletivo e de ação sistêmica. Apresenta largo espectro de ação, o que possibilita o controle de plantas daninhas anuais e perenes (GALLI; MONTEZUMA, 2005). É utilizado principalmente na agricultura, mas também muito útil para o controle de plantas em reflorestamentos, jardinagens, e de plantas aquáticas em tanques de criação de peixes e em lagos (NESKOVIC et al., 1996).

O glifosato é absorvido basicamente pela região clorofilada das plantas (folhas e tecidos verdes) e translocado preferencialmente pelo floema, para os tecidos meristemáticos. Por ser um derivado da glicina (um aminoácido essencial presente nas plantas), a molécula de glifosato não é percebida como um potencial agressor. Atua na planta como um inibidor da atividade da enzima 5-enolpiruvilshiquimato-3-fosfato sintase (EPSPS), que é catalisadora de uma das reações de síntese dos aminoácidos aromáticos essenciais como fenilalanina, tirosina e triptofano, os quais são precursores de outros produtos, como lignina, alcalóides, flavonóides e ácidos (GALLI; MONTEZUMA, 2005). A morte das plantas sensíveis ocorre no período de 4 a 20 dias após o tratamento (VARGAS, 2003).

A principal rota de degradação do glifosato são os micro-organismos de solo e água por processos aeróbicos e anaeróbicos. Possui tempo de meia vida em torno de 32 dias (GALLI; MONTEZUMA, 2005). A degradação do glifosato no solo pode seguir duas rotas. A primeira consiste na transformação do glifosato em sarcosina, por ação das bactérias *Agrobacterium radiobacter* ou *Enterobacter aerogenes*: a sarcosina entra no metabolismo destes micro-organismos e de outros, sendo degradada. A segunda rota consiste na transformação do glifosato em ácido aminometilfosfônico, ou AMPA. O composto livre no solo é degradado rapidamente a dióxido de carbono, pela atividade microbiana, enquanto que o glifosato adsorvido é degradado lentamente, ou não degradado, persistindo inativo durante anos. (AMARANTE JR et al., 2002).

1.4 Ecotoxicologia aquática

O termo ecotoxicologia é definido como a ciência que estuda os efeitos das substâncias naturais ou sintéticas sobre os organismos vivos, populações e comunidades, animais ou vegetais, terrestres ou aquáticos, que constituem a biosfera, incluindo assim a interação das substâncias com o meio nos quais os organismos vivem (COSTA; OLIVI, 2008).

Dentre as diferentes substâncias químicas produzidas pela humanidade, apenas uma pequena parcela tem sido estudada quanto aos seus possíveis efeitos nos seres vivos (FERRARO et al., 2004).

A toxicologia aquática possui como foco inicial o estudo com substâncias químicas tóxicas ao meio ambiente, entretanto, ocorreu a expansão destes estudos, e atualmente envolvem conversões metabólicas de carcinógenos, modificações no DNA e outros processos bioquímicos distintos. Alguns sistemas bioquímicos dos organismos aquáticos são similares ao de animais terrestres, tal como o sistema que responde à substância estranha ao organismo e aquele responsável pelas oxidases de funções mistas (MALINS; OSTRANDER, 1991).

A ecogenotoxicologia aquática estuda a exposição de espécies aquáticas aos compostos genotóxicos, os quais aumentam o risco de câncer, toxicidade de embriões e efeitos teratogênicos. O potencial do impacto ecológico de cada efeito nos indivíduos pode levar a distúrbios na dinâmica da população e na comunidade, e dentre as implicações ecológicas associadas à genotoxicidade, a detecção e

quantificação dos danos genéticos são mais interessantes para a realização de estudos ambientais (NACCI; CAYULA; JACKIM, 1996).

Os agentes genotóxicos podem causar danos no DNA e caso não ocorra o reparo das lesões, pode ser iniciada uma cascata de consequências biológicas nas células, órgãos, no animal inteiro e finalmente atingir a população e comunidade do organismo. Estes danos, em uma variedade de animais aquáticos, estão associados à redução do crescimento corporal, desenvolvimento anormal, diminuição da sobrevivência de embriões, larvas e animais adultos (LEE; STEINERT, 2003).

Muitas das substâncias químicas lançadas ao ambiente são agentes causadores de mutações gênicas e de alterações cromossômicas. Algumas destas substâncias são chamadas de aneugênicas, pois atuam provocando alterações na distribuição dos cromossomos durante o processo de divisão celular dando origem às aneuploidias. Outras são chamadas de clastogênicas e induzem quebras e alterações na estrutura dos cromossomos. Em qualquer dos casos é possível, através de testes citogenéticos, avaliar os efeitos mutagênicos de um determinado composto, o que torna estes tipos de testes imprescindíveis nestas avaliações (RABELLO-GAY et al., 1991).

Os peixes fornecem um modelo adequado para o monitoramento da genotoxicidade aquática e da qualidade das águas residuais, devido à sua capacidade de metabolização de xenobióticos e acumulação de poluentes (GRISÓLIA; CORDEIRO, 2000). Eles normalmente respondem aos compostos tóxicos em vias similares aos grandes vertebrados, assim podem ser utilizados em ensaios para testar substâncias químicas. A utilização dos peixes como um sistema bioindicador tem apresentado resultados satisfatórios na avaliação dos efeitos de químicos contaminantes no meio ambiente aquático, incluindo rios, lagos e barragens (GRISOLIA et al., 2005).

1.5 Teste de micronúcleo

Os efeitos de substâncias ou produtos químicos sobre o genoma de peixes têm sido objeto de muitos estudos, em especial dos que buscam estabelecer a resposta entre os genes e os estímulos ambientais. Uma vez que os seres humanos são expostos ao longo da vida a uma série de xenobiontes presentes tanto na água como em alimentos obtidos desse meio, organismos que possam indicar a presença

de ação genotóxica de poluentes aquáticos são ferramentas importantes para o diagnóstico ambiental (UDROIU, 2006).

A análise de alterações no DNA de organismos aquáticos tem se mostrado uma ferramenta útil para avaliar contaminação ambiental por substâncias genotóxicas, sendo capaz de detectar efeitos de exposição a pequenas concentrações de contaminantes em uma vasta gama de espécies. Esses métodos apresentam a vantagem de quantificar impactos genotóxicos sem a necessidade de conhecimentos detalhados sobre as propriedades físico químicas dos contaminantes (FRENZILLI; NIGRO; LYONS, 2009).

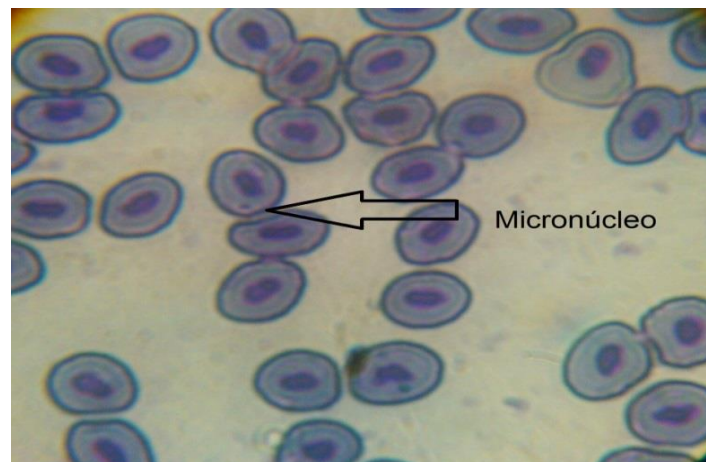
O Teste de Micronúcleos (MN) permite avaliar de forma rápida e confiável danos cromossômicos causados por perda de cromossomos inteiros ou por quebras cromossômicas (FENECH, 2000). Esse teste tem sido largamente empregado para avaliar ação genotóxica induzida por agentes químicos ou físicos. Primeiramente utilizado em roedores este teste tem demonstrado aplicabilidade em outros grupos como plantas e peixes, nesse último caso tem indicado ser uma ferramenta sensível e de fácil execução para identificar propriedades genotóxicas de compostos presentes no ambiente aquático (UDROIU, 2006).

Esse método foi originalmente desenvolvido para ser utilizado em células de medula óssea de camundongos (SCHMID, 1975 apud RAMSDORF, 2007) e mais tarde adaptado por Hooftman e Raat (1982) apud Ramsdorf (2007), para o estudo de células sanguíneas de peixes, sendo conhecido como Teste do Micronúcleo Píscio (VICARI, 2009). Uma vez que peixes teleósteos possuem eritrócitos nucleados, o MN mostrou ser uma ferramenta viável para análise de efeitos clastogênicos e aneugênicos causados por poluentes. Antes da implementação dessa ferramenta, técnicas de análise de cromossomos em metáfase, como teste de aberrações cromossômicas e troca entre cromátides irmãs para análise de danos genéticos causados por contaminantes eram inviáveis para praticamente todas as espécies de peixes devido ao tamanho reduzido do animal e por possuir grande número de cromossomos, fatores esses que não alteram o desempenho do teste de micronúcleos (HAYASHI et al., 1998 apud RAMSDORF, 2007).

Os micronúcleos são massas de cromatina originada de fragmentos cromossômicos ou cromossomos inteiros, que se perdem durante a anáfase na divisão celular, devido aos eventos clastogênicos ou aneugênicos, também podem ser formados pela interação de agentes químicos, físicos e biológicos com estruturas

não genômicas, que promovem distúrbios na maquinaria mitótica e falha na segregação dos cromossomos (Figura 2) (FENECH, 2000).

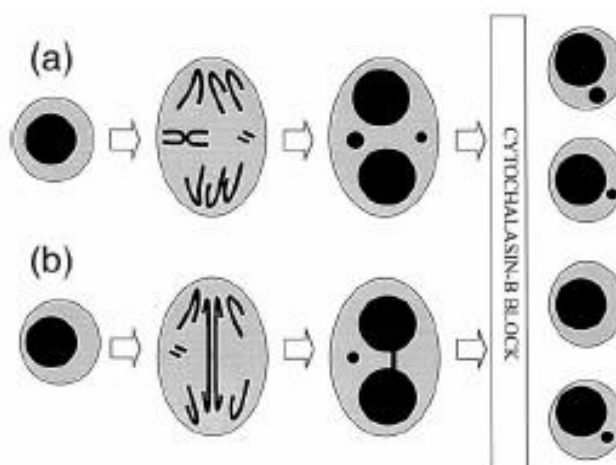
Figura 2 - Micronúcleo em células de eritrócitos de sangue periférico de *Colossoma macropomum*, corados com corante Panótico.



Fonte: O autor, 2014.

A ação dos agentes pode originar os micronúcleos, um ou vários por célula, que resultam em fragmentos cromossômicos acêntricos ou cromossomos que se atrasam em relação aos demais em migração para os polos da célula durante a anáfase (Figura 3) (FENECH, 2000; SOUZA; FONTANELLI, 2006).

Figura 3 - Formação de micronúcleo em eritroblasto. (a) ação do agente clastogênico com quebra cromossômica. (b) ação do agente no fuso mitótico.



Fonte: FENECH, (2000).

O teste do micronúcleo é um método amplamente utilizado para o monitoramento de danos genotóxicos em populações expostas à substâncias mutagênicas e carcinogênicas. A frequência de MN observada em um determinado momento pode ser considerada uma resposta complexa entre a atividade genotóxica e a eficiência do mecanismo fisiológico de defesa do organismo teste (MERSCH; BEAUVAIS; NAGEL, 1996).

São considerados micronúcleos clássicos aquelas estruturas circulares de mesma refração que o núcleo, não ligadas a esse, e que possuam um tamanho que corresponda de 1/5 a 1/20 do tamanho do núcleo principal da célula. No caso específico dos peixes, devido ao tamanho normalmente reduzido dos cromossomos, a proporção de tamanho passa para a faixa de 1/10 a 1/30 do tamanho do núcleo (AL-SABTI; METCALFE, 1995).

Guisi (2010) apud Aranha (2013) buscando desenvolver uma padronização para o número de células a serem computadas no Teste de Micronúcleos, uma vez que a literatura registrava trabalhos com análise de mil a dez mil células, comparou estatisticamente os resultados de contagens de mil, duas mil, três mil e quatro mil células, concluindo que a contagem de apenas mil células mostra resultados satisfatórios.

Diante do grande uso de herbicidas nas pisciculturas do estado de Rondônia para controle de macrófitas aquáticas e gramíneas, o teste de micronúcleo é um bom indicador para analisar se tais agentes causam contaminação aquática nos organismos.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar possíveis efeitos genotóxicos em peixes de pisciculturas que utilizam agrotóxico na região de Presidente Médici/RO.

2.2 Objetivos específicos

- Obter informações sobre o uso do agrotóxico nas pisciculturas;
- Avaliar a frequência de micronúcleos nas células de eritrócito periférico do tambaqui;
- Correlacionar à frequência do uso de agrotóxico na piscicultura e a incidência de micronúcleos nos eritrócitos periféricos do tambaqui;
- Correlacionar a relação peso-comprimento com o uso de agrotóxico.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Entrevista estruturada

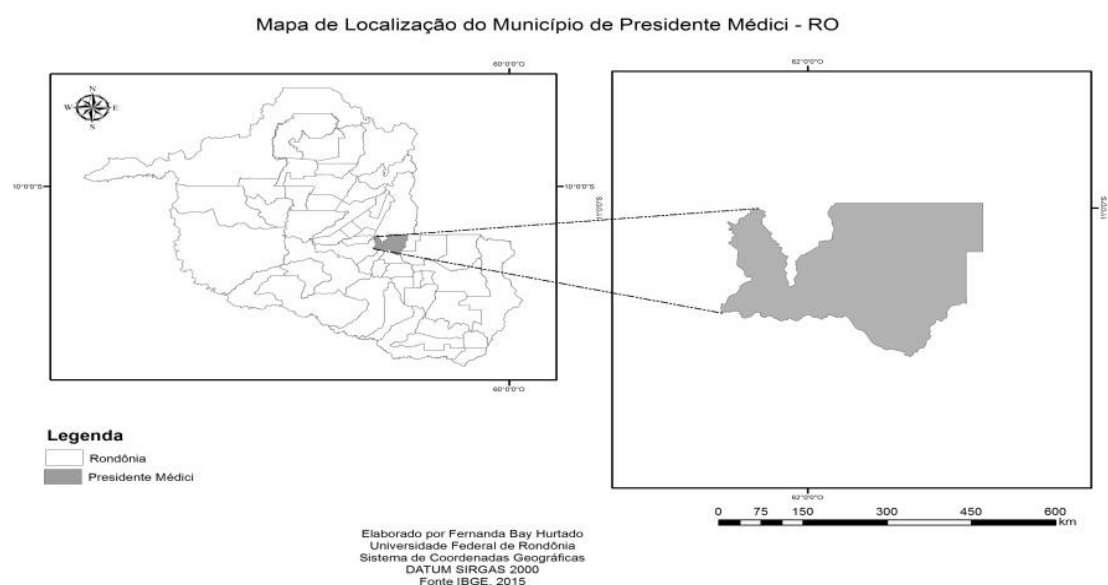
As informações sobre o uso do agrotóxico foram obtidas por meio de entrevista estruturada aplicada ao piscicultor com o objetivo de obter informações sobre o manejo do agrotóxico nas pisciculturas (Apêndice A).

Este tipo de entrevista baseia-se na utilização de um questionário como instrumento de coleta de informações, o que garante que a mesma pergunta será feita da mesma forma a todas as pessoas que forem pesquisadas (AGUIAR; MEDEIROS, 2009). Gil (1999) explana que a entrevista estruturada desenvolve-se a partir de uma relação fixa de perguntas, cuja ordem e redação permanece invariável para todos os entrevistados.

3.2 Locais de coleta

As coletas foram realizadas entre o período de 15 de outubro a 12 de dezembro de 2014 em quatro pisciculturas do município de Presidente Médici – RO (Figura 4), no período que adotavam o cultivo do peixe da espécie Tambaqui.

Figura 4 - Mapa de localização do município de Presidente Médici.



Fonte: IBGE, 2015.

A piscicultura P1 está localizada na 1ª Linha Setor Leitão Gleba 04 (Latitude 11° 8'35.80"S, Longitude 61°57'14.68"), possuindo 1,3 ha de lâmina de água e densidade de estocagem normal. A piscicultura P2 e P3 estão localizadas na linha 136 Setor Leitão Gleba 07 (11° 8'27.78"S, 61°45'59.56") (11° 8'9.98"S, 61°45'48.52"), uma possuindo 0,64 ha e a outra 0,8 ha, ambos também com densidade de estocagem normal. A piscicultura P4 foi a Base de Piscicultura Carlos Eduardo Matiaze na zona urbana de Presidente Médici (11° 9'56.68"S, 61°53'50.59"), possuindo 1,6 ha e uma alta densidade de estocagem nos tanques coletados.

Foram capturados 40 peixes por piscicultura, de 2 tanques por propriedade, sendo 20 animais por tanque, totalizando uma amostragem de 160 peixes. Em todas as propriedades os peixes foram alimentados com ração comercial 28% de proteína bruta e permaneceram em jejum durante 24 horas antes para a realização da despesca total dos tanques feita através de arrastão e em seguida realização do abate em choque térmico.

3.3 Avaliações biométricas

O fator de condição (K) é um índice muito utilizado em estudos de biologia pesqueira, pois indica o grau de bem-estar do peixe frente ao ambiente em que vive (BRAGA, 1986). K pode ser obtido pela expressão $K = W/L^b$ (fator de condição alométrico) onde b é estimado pela equação da relação peso-comprimento ($W = a.L^b$); W é o peso e L é o comprimento total, **a** e **b** são estimativas dos parâmetros de correlação. O parâmetro **a** é o coeficiente linear da relação peso-comprimento, sendo o intercepto na forma logarítmica, enquanto o parâmetro **b** é o coeficiente angular da forma aritmética da relação peso-comprimento e a inclinação da linha de regressão na forma logarítmica. Assim quando **b** é igual a 3, a espécie pode ter um crescimento isométrico, ou seja, o peso aumenta proporcionalmente com o comprimento; quando **b** é menor que 3 o crescimento é alométrico negativo, ou seja, o incremento maior se dá no comprimento, e quando **b** é maior que 3 o crescimento é alométrico positivo, com o incremento em peso mais acentuado que o comprimento (FLYNN et al., 2010).

As medidas biométricas (Figura 5) foram realizadas individualmente em todos os animais amostrados antes do abate, utilizando-se fita métrica de tecido e balança

digital portátil (Weiheng), foram medidas as seguintes variáveis: Comprimento padrão (CP) - Medida horizontal, da ponta da boca(parte superior) à base da nadadeira caudal e peso total (PT) – Peso do indivíduo.

Figura 5 - Medidas biométricas. (A) Comprimento padrão. (B) Peso total.



Fonte: O autor, 2014.

3.4 Coleta de sangue e procedimentos de análises

Após a despesca os peixes foram envoltos com pano úmido sobre os olhos para contenção e colocados sobre uma mesa (RANZANI-PAIVA et al., 2013). A colheita de sangue foi realizada por punção do vaso caudal com auxílio de seringas de 5 mL agulha 25 x 7mm descartáveis e trocadas para cada animal para não haver nenhum tipo contaminação (Figura 6).

Figura 6 - Coleta de sangue periférico por punção do vaso caudal de tambaqui.



Fonte: O autor, 2014.

Após a coleta o sangue foi acondicionado em tubos contendo solução de ácido etilenodiaminotetraacético (EDTA) 10% homogeneizado através de suave inversão por 10 vezes, e armazenado sob refrigeração (entre 5 °C a 7 °C) em caixa térmica com gelo. Para evitar congelamento os tubos foram colocados em estantes apropriadas e estas acomodadas de forma que não ficassem em contato direto com o gelo (RANZANI-PAIVA et al., 2013).

As amostras de sangue foram levadas para o Laboratório de Análises Físico-Químicas e Microbiológicas do *Campus* de Presidente Médici - UNIR para confecção das extensões em lâminas (Vision Glass). Foram confeccionadas cinco extensões por indivíduo, e destas selecionadas as três melhores (RANZANI-PAIVA et al., 2013). As extensões sanguíneas foram secas por 12 horas à temperatura ambiente (22 – 24°C) e posteriormente coradas com corante Panótico (New Prov) e novamente secas por 24 horas à temperatura ambiente (22 – 24°C). Logo após foram armazenadas em caixa porta lâminas e mantidas em refrigerador(CONSUL FACILITE) até a contagem dos eritrócitos. Os esfregaços sanguíneos foram analisados no microscópio óptico (BIOVAL), com a objetiva de (100 X) e contados 3000 eritrócitos por indivíduo, ou seja 1000 eritrócitos por esfregaço sanguíneo. Para a análise estatística dos dados e elaboração dos gráficos foram utilizados os softwares GRAPHPAD PRISM 5. Os resultados foram apresentados em termos de média \pm desvio padrão da distribuição. Os dados foram avaliados pelo teste Tukey em nível de 95%, ou análise de variância com um critério (ANOVA-ONE WAY).

4 RESULTADOS

4.1 Agrotóxico nas pisciculturas

Com a aplicação da entrevista estruturada foram obtidas as seguintes informações:

Tabela 1 - Uso do agrotóxico nas pisciculturas.

Piscicultura	Uso do agrotóxico	Marca	Frequência (ano)	Tipo de aplicação	Abastecimento da piscicultura	Sistema de abastecimento entre tanques
P1	sim	Glifosato	1	Direta	Nascente própria	Cascata
P2	Sim	Glifosato	2 a 3	Direta	Nascente própria	Individual
P3	Sim	Glifosato	2 a 3	Direta	Nascente própria	Individual
P4	Não	X	X	Indireta	Nascente própria e de outra propriedade	Individual

Obs: (A piscicultura P1 utilizou o agrotóxico apenas em um dos tanques, e a piscicultura P4 não utiliza agrotóxicos, porém, recebe água contaminada do mesmo em sua represa de abastecimento de propriedades vizinhas que fazem uso de agrotóxico).

Fonte: Dados da Pesquisa, 2015.

Com exceção da piscicultura P4 as demais utilizam o herbicida glifosato diretamente no tanque com o propósito de matar gramíneas e macrófitas aquáticas, empregam pulverizador costal, utilizando 150 mL/ bomba de 20 L (concentração de 7,5 mL de herbicida glifosato/L de água). Observamos que o perfil de aplicação é igual entre as pisciculturas, mudando somente a frequência.

4.2 Avaliação biométrica

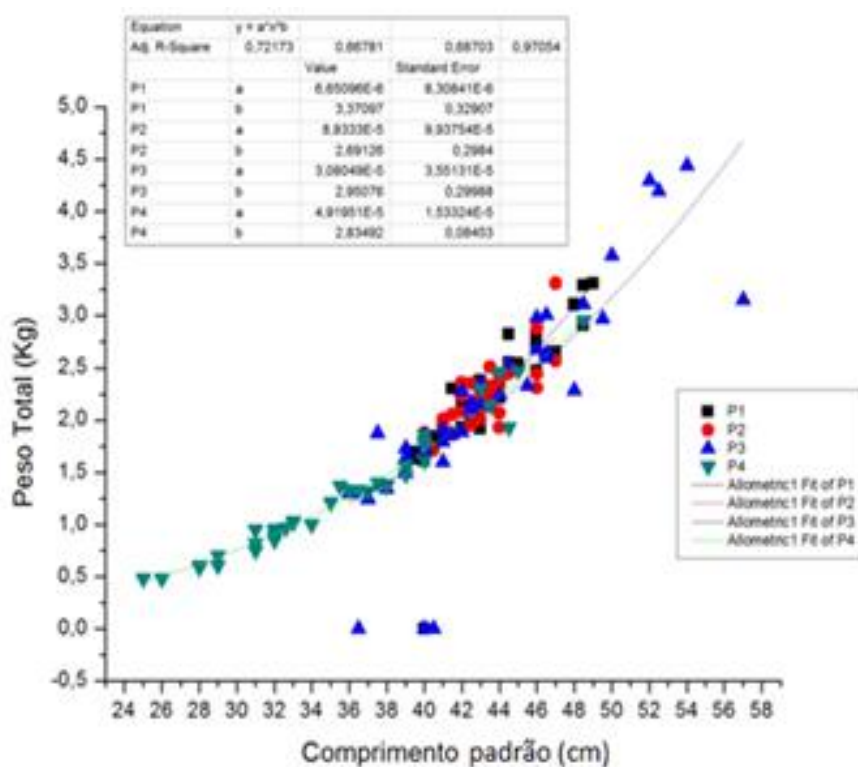
Os resultados obtidos através da avaliação biométrica, dados pela relação peso-comprimento, sofrem efeito do fator de condição (k) expresso pelos parâmetros **a** e **b** em todas as pisciculturas (Tabela 2). As pisciculturas P2, P3 e P4 apresentaram $b < 3$ (alométrico negativo) e somente a piscicultura P1 apresentou $b > 3$ (alométrico positivo).

Tabela 2 - Equações e parâmetros a e b para as 4 pisciculturas.

Piscicultura	Equação	a	b	r^2
P1	$W=6,650.L^{3,370}$	6,650	3,370	0,721
P2	$W=8,833.L^{2,691}$	8,833	2,691	0,667
P3	$W=3,080.L^{2,950}$	3,080	2,950	0,687
P4	$W=4,919.L^{2,834}$	4,919	2,834	0,970

Onde W = peso e L = comprimento

Fonte: Dados da Pesquisa, 2015.

Figura 7 - Relação peso-comprimento, **a** e **b** das 4 pisciculturas.

Fonte: Dados da Pesquisa, 2015.

A variação no comprimento e peso dos indivíduos das quatro pisciculturas está representada na Tabela 3. Os indivíduos da piscicultura P1 apresentaram maiores médias de comprimento e peso do que os indivíduos das pisciculturas P2, P3 e P4.

Tabela 3 - Variação no peso (kg) e comprimento total (cm) dos tambaquis nas pisciculturas amostradas.

Pisciculturas	n	Comprimento(cm)				Peso(kg)			
		Mín	Máx	Média	DP	Mín	Máx	Média	DP
P1	40	39,5	48	43,47 ^a	2,74	1,6	3,3	2,23 ^b	0,5
P2	40	40	47	43,01 ^a	1,88	1,6	2,8	2,20 ^b	0,3
P3	40	36	52,5	43,51 ^a	5,00	1,2	4,4	2,30 ^b	0,8
P4	40	25	48,5	35,39 ^a	5,64	0,4	2,9	1,30 ^b	0,6

Onde: n = número de indivíduos analisados; Mín = mínimo; Máx = máximo; DP = desvio padrão da média. Médias seguidas da mesma letra na coluna diferem significativamente ao nível de 5% pelo teste de Tukey.

Fonte: Dados da Pesquisa, 2015.

4.3 Teste de micronúcleos em tambaqui das pisciculturas

A piscicultura P3 foi a que apresentou a maior frequência de MN (média de $25,58 \pm 12,63$), seguida pela piscicultura P2 (média de $12,87 \pm 3,59$), piscicultura P4 (média de $11,63 \pm 8,52$) e a piscicultura P1 apresentou a menor média ($4,87 \pm 4,77$).

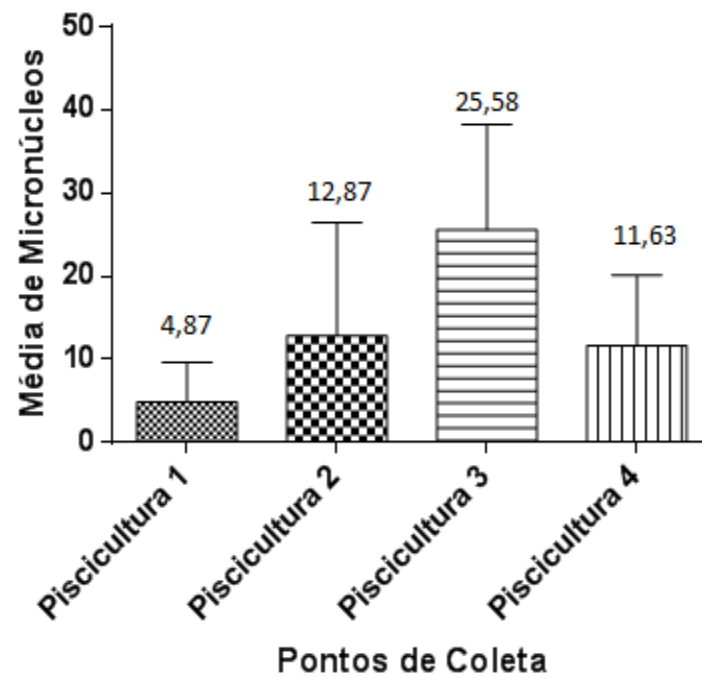
Tabela 4 - Frequência de micronúcleos (MN) em eritrócitos periféricos de tambaquis coletados nas pisciculturas.

Pisciculturas	Número de indivíduos	Total de células analisadas	Total de MN	Média \pm DP
P1	40	120.000	585 ^a	$4,87 \pm 4,77$
P2	40	120.000	1544 ^{a,b}	$12,87 \pm 3,59$
P3	40	120.000	3070 ^{a,b}	$25,58 \pm 12,63$
P4	40	120.000	1396 ^a	$11,63 \pm 8,52$

Médias seguidas da mesma letra na coluna diferem significativamente ao nível de 5% pelo teste de Tukey.

Fonte: Dados da Pesquisa, 2015.

Figura 8 - Frequência de micronúcleos em eritrócitos periféricos de tambaqui coletados nas quatro pisciculturas da cidade de Presidente Médici, RO.



Fonte: Dados da Pesquisa, 2015.

5 DISCUSSÃO

5.1 Relação peso-comprimento

O coeficiente de alometria (**b**) e o fator de condição (**a**) são parâmetros importantes, obtidos da relação peso-comprimento para o estudo das populações de peixes. Esses parâmetros são fundamentais para o conhecimento do ciclo de vida de uma população, e a maneira mais adequada para a estimativa de peso a partir de um comprimento conhecido e vice-versa. Suas aplicações permitem estimar o crescimento dos indivíduos, também podem ser utilizados como indicadores do acúmulo de gordura e de desenvolvimento das gônadas (WEATHERLEY, 1972).

A piscicultura P1 apresentou $b > 3$ (alométrico positivo), ou seja, o crescimento em peso é maior do que em comprimento, isso significa que apresentaram maior deposição em tecidos, possivelmente o muscular, visto que o musculo pesa 3x mais que tecido adiposo.

A piscicultura P2 apresentou $b < 3$ (alométrico negativo), significando que o crescimento é maior em comprimento do que em peso, tal pode ter ocorrido devido a problemas genéticos pois durante a coleta observamos que havia vários peixes deformados (Figura 9).

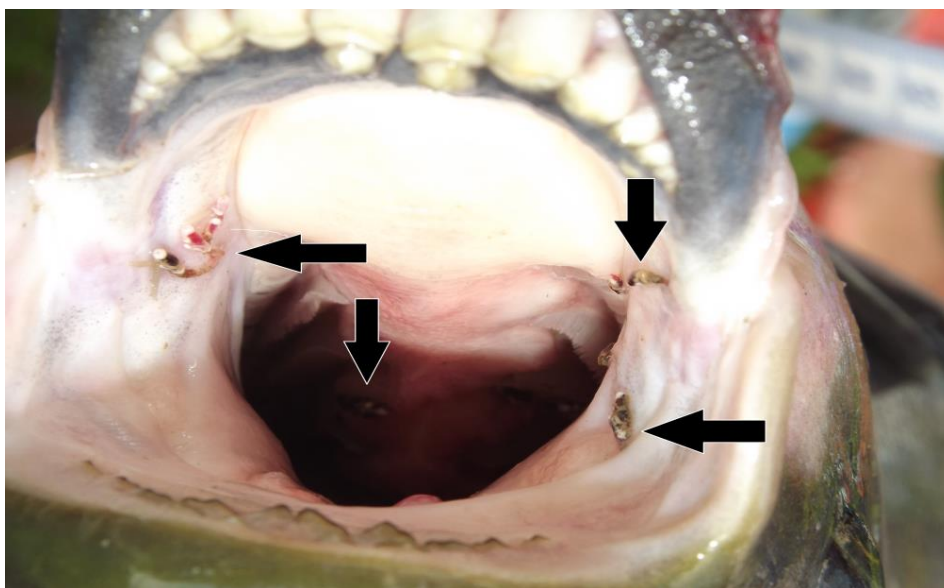
Figura 9 - Deformação de peixe coletado na piscicultura 2.



Fonte: O autor, 2014.

A piscicultura P3 apresentou $b < 3$ (alométrico negativo), o que podemos correlacionar com a grande infestação de *Perulernaea gamitanea* (Figura 10), uma espécie de parasita que se aloja na boca do peixe deixando o animal com dificuldades de se alimentar, causando anemia e redução no peso, e consequentemente dificultando o desenvolvimento do indivíduo (TAVARES-DIAS et al., 2009).

Figura 10 - Infestação de *Perulernaea gamitanea* na piscicultura 3.



Fonte: O autor, 2014.

A piscicultura P4 também apresentou $b < 3$ (alométrico negativo), essa piscicultura não utiliza agrotóxico, mais recebe toda a descarga de enxurrada em sua represa de abastecimento das propriedades vizinhas que fazem uso do produto (relato do entrevistado), outro fator também que pode ser correlacionado a este resultado é a alta densidade de estocagem no momento da coleta de material.

As pisciculturas deste estudo não apresentaram parâmetros compatíveis com os encontrados na literatura (ARAÚJO; VICENTINI, 2001; GIARRIZZO et al., 2006) quanto ao bem-estar animal $b = 3$. Variações em torno desses parâmetros nas pisciculturas podem estar relacionadas às diferentes condições ambientais e manejo de agrotóxicos.

5.2 Correção entre micronúcleos x agrotóxicos

Constatou-se que houve diferença significativa entre as pisciculturas com relação ao número de micronúcleos e a frequência de uso do agrotóxico.

A piscicultura P1 apresentou a menor média de MN em relação às outras, e também foi constatado durante a aplicação da entrevista estruturada que esta foi a piscicultura que menos utilizou agrotóxico durante o ciclo do cultivo do tambaqui. O piscicultor apenas passou em um lado de um tanque, por este fato pode-se inferir que quanto maior a frequência de uso, também é maior a frequência de MN .

A piscicultura P2 apresentou a segunda maior frequência de MN e a frequência de uso do agrotóxico é maior que a piscicultura P1. Porém como colocado anteriormente, os peixes da piscicultura P2 apresentaram deformações físicas (Figura 9). Segundo Houde (1973) apud Dufech (2009) o tempo de exposição a agentes mutagênicos pode ter alterado sua morfologia e a poluição do ambiente afetado a disponibilidade de nutrientes. Algumas evidências disponíveis na literatura sugerem que as anomalias físicas são induzidas durante os períodos embrionários e pós- embrionários de vida, num mecanismo que ainda não é bem entendido. Sanders et al (1999) apud Dufech (2009) observaram um baixo número ou porcentagem de anomalias em locais não poluídos e um alto número ou porcentagem em locais poluídos por descargas de esgoto, de indústrias ou ambas.

A piscicultura P3 apresentou a maior frequência de MN, sendo sua média o dobro da piscicultura P2, a qual tinha o mesmo perfil e frequência de uso do agrotóxico, porém, como já relatado, esta piscicultura estava com infestação de parasitas *Perulernaea gamitanea* (Figura 10). Pavanelli et al (2002) apud Dufech (2009) comentam que o estresse ambiental pode afetar o estado fisiológico dos peixes, tornando-os susceptíveis á infestação parasitária. Segundo Tavares-Dias e De Moraes (2004) processos anemiantes causados por parasitas são atribuídos a distúrbios na produção de eritrócitos e perdas dessas células. Deste modo também podemos correlacionar a alta frequência de MN à condição parasitária encontrada na referida piscicultura, pois a piscicultura P2 realizava a mesma frequência de uso de agrotóxicos e apresentou metade da média de MN encontrada na piscicultura P3.

A piscicultura P4 apresentou a terceira maior frequência, sendo está a única que não fazia uso do agrotóxico, porém durante a entrevista estruturada foi relatado que sua água de abastecimento vem de propriedades vizinhas as quais utilizam

agrotóxico. Segundo Lima (2014) há acúmulo dos elementos químicos como defensivos agrícolas e veterinários (herbicida, inseticida e medicamentos), produtos esses que são carregados, principalmente pela água da chuva e depositado na represa de abastecimento da Base de Piscicultura Carlos Eduardo Matiaze (Piscicultura P4).

As pisciculturas P2 e P3 fazem uso do agrotóxico com maior frequência (2 a 3 vezes por ano) e apresentaram maiores médias de MN em relação a piscicultura 1, que possui menor frequência de uso. A piscicultura P4 apesar de não utilizar agrotóxico recebe água contaminada por agrotóxicos das propriedades vizinhas e obteve a terceira maior média de MN. Com base na frequência de uso do agrotóxico, o teste de MN se mostrou uma boa ferramenta de estudo para avaliar efeitos genotóxicos em ambientes impactados ou poluídos por agrotóxicos ou qualquer outra fonte contaminadora.

ARANHA (2013), fazendo testes de toxicidade aguda com juvenis de tambaqui expostos a glifosato, o mesmo herbicida utilizado nas pisciculturas do presente trabalho, constatou que a análise de frequência de MN indicou que os juvenis de tambaqui expostos a concentração de $1,858 \text{ mg.L}^{-1}$ apresentaram aumento significativo na frequência de MN em comparação ao grupo controle negativo após 7 dias de exposição.

Em estudo para avaliar a existência de contaminação aquática no rio Paranaíba, MG, Costa, Silva e Nepomuceno (2010), utilizando teste de MN em mandi-amarelo (*Pimelodus maculatus*) observaram alta frequência de MN nos peixes do referido rio quando comparados aos peixes utilizados como controle. Tais resultados indicam exposição dos animais do rio a substâncias e/ou a condições ambientais de potencial genotóxico. Vários trabalhos têm demonstrado a eficiência do teste de MN no biomonitoramento de ambientes aquáticos (PANDRANGI et al., 1995; BUSCHINI et al., 2004; GALINDO et al., 2010; AHMED et al., 2011).

Além das análises de contaminação ambiental, vários experimentos conduzidos em laboratório demonstraram a existência de efeitos genotóxicos em peixes expostos a agrotóxicos utilizados nas mais diversas culturas (LOPES, 2005; BONY, et al., 2008; FERRARO, 2009). Chapadense et al., (2009) demonstraram aumento significativo no número de MN eritrocitários em tambaquis expostos ao herbicida atrazina, sugerindo ação genotóxica na espécie avaliada.

Diante dos resultados obtidos neste trabalho, observamos que o uso do agrotóxico diretamente aos tanques da piscicultura induz a um maior número de MN em tambaquis do que em pisciculturas que o utilizam com menor intensidade ou o recebe através de lixiviação água contaminada com agrotóxico de outras culturas.

O tambaqui tem sido utilizada em vários estudos como organismo teste (DA ROCHA et al., 2011; KOCHHANN et al., 2013). Aranha (2013) afirma que seus resultados demonstram a sensibilidade do tambaqui para ensaios de genotoxicidade e reforçam sua importância para monitoramento ambiental em ecossistemas amazônicos expostos à contaminação por agrotóxicos.

5.3 Correlação entre relação peso-comprimento x micronúcleos.

Ao decorrer do estudo observamos que existe correlação entre a relação peso-comprimento e a frequência de micronúcleos. Ao analisar a tabela 2 denota-se que a piscicultura P1 foi a única que apresentou $b > 3$ e também a menor média de MN, significando que por mais que os peixes não estejam em uma situação de bem estar-animal ($b = 3$), estão maiores e mais pesados que os peixes das outras pisciculturas. A frequência de MN dessa piscicultura também foi baixa em relação as demais, indicando que a contaminação sofrida é menor.

As pisciculturas P2, P3 e P4 apresentaram $b < 3$ e médias de MN significativamente maiores comparadas à piscicultura P1, de forma que conseguimos correlacionar que quando $b < 3$ a frequência de MN é maior, indicando que o agrotóxico causa contaminação ambiental e que obviamente os peixes não se encontram em uma situação de bem-estar animal.

A relação peso comprimento é utilizada como bioindicador de estresse animal e o teste de MN como bioindicador de poluição aquática. Ambos podem ser relacionados, pois se há algum agente poluente no ambiente, este leva ao estresse e à perda de peso.

A relação peso-comprimento reflete o estado nutricional dos indivíduos, sendo possível relacioná-los às variações ambientais, ao processo reprodutivo e aos aspectos comportamentais (VAZZOLER, 1996). Além disso, também tem sido utilizada como uma ferramenta para avaliação de impacto ambiental (ARAÚJO; FLYNN; PEREIRA, 2011).

Este estudo demonstrou que o teste de micronúcleo e a relação peso-comprimento podem ser utilizados como bioindicadores em locais poluídos e impactados uma vez que podem ser correlacionados.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

- As pisciculturas utilizam o herbicida glifosato em concentração de 7,5 mL/L de água nos tanques de piscicultura com o propósito de eliminar gramíneas e macrófitas aquáticas, mudando somente frequência de uso.
- Os resultados obtidos com a relação peso-comprimento demonstraram que os animais não estão em estado de bem estar animal.
- Houve correlação entre a incidência eritrócitos micronucleados e o uso do agrotóxico nos tanques da piscicultura, assim como em pisciculturas o recebem através do processo de lixiviação de água contaminada de outras culturas (agropecuária e lavoura), evidenciando que substâncias poluentes apresentam efeito genotóxico ao tambaqui.
- A relação peso-comprimento e o teste de micronúcleo apresentaram correlação que pode ser útil para o biomonitoramento de ambientes contaminados.

REFERÊNCIAS

AGUIAR, V.R.L; MEDEIROS, C.M. Entrevistas na pesquisa social: O relato de um grupo de foco nas licenciaturas. In: **Congresso nacional de educação**. 2009.

AHMED, M.K et al. Assessing the genotoxic potentials of arsenic in tilapia (*Oreochromis mossambicus*) using alkaline comet assay and micronucleus test. **Chemosphere**, v. 84, n. 1, p. 143-149, 2011.

ALBINATI, A.C.L, et. al. Biomarcadores histológicos - toxicidade crônica pelo Roundup em piauçu (*Leporinus macrocephalus*). **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.61, n.3, p.621-627, 2009.

AL-SABTI, K.; METCALFE, C.D. Fish micronuclei for assessing genotoxicity in water. Mutation Research – **Genetic Toxicology**. v. 343, p. 121-135, 1995.

AMARANTE JR, O. P et al. Glifosato: propriedades, toxicidade, usos e legislação. **Química Nova**, v. 25, n. 4, p. 589-593, 2002.

ARANHA, R.C. **Potencial de toxicidade dos herbicidas glifosato e imazetapir em *Colossoma macropomum* (Pisces)**. 2013. 69 p. Dissertação de Mestrado em Ciências Ambientais, área de concentração Estudos de Ecossistemas Amazônicos. Universidade Federal do Oeste do Pará – UFOPA, Santarém, 2013.

ARAÚJO, C. C; FLYNN, M. N; PEREIRA, W. R. L. Indicadores de qualidade da água e biodiversidade do Rio Jaguari-Mirim no trecho entre as pequenas centrais hidrelétricas de São José e São Joaquim, São João da Boa Vista, São Paulo. **RevInter: Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade**, v. 4, n. 3, p. 51-64, 2011.

ARAÚJO, F. G.; VICENTINI, R. N. Relação peso - comprimento da corvina *Micropogonias furnieri* (Desmarest) (Pisces, Sciaenidae) na Baía de Sepetiba, Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Zoologia**, v.18, n.1, p.133-138, 2001.

BONY, S. et al. Genotoxic pressure of vineyard pesticides in fish: field and mesocosm surveys. **Aquatic toxicology**, v. 89, n. 3, p. 197-203, 2008.

BRAGA, F. M. S. Estudo entre o fator de condição e relação peso-comprimento para alguns peixes marinhos. **Revista Brasileira de Biologia**, Curitiba, v. 46, n. 2, p. 339-346, 1986.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Anvisa divulga resultado do monitoramento de agrotóxico em alimentos. Brasília. DF. 2010. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/7122b3804745869c8feadf3fbc4c6735/Relatorio_5_anos_DEFINITIVO.pdf?MOD=AJPERES>. (Acesso em: 20 mar. 2015).

BUSCHINI, A. et al. Comet assay and micronucleus test in circulating erythrocytes of *Cyprinus carpio* specimens exposed in situ to lake waters treated with disinfectants for potabilization. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 557, n. 2, p. 119-129, 2004.

CARDOSO, E.S. Geografia e pesca: aportes para um modelo de gestão. **Revista do Departamento de Geografia**, v. 14, p. 79 – 88, 2001.

CHAPADENSE, P.F.G et al. Toxicidade do herbicida atrazina em "*Colossoma macropomum*". **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 10, n. 2, 2009.

COSTA E SILVA, A.; NEPOMUCENO, J. C. Avaliação da frequência de micronúcleos em eritrócitos periféricos de mandi-amarelo (*Pimelodus maculatus*) do rio Paranaíba. PERQUIRÊRE - **Revista do Núcleo Interdisciplinar de Pesquisa e Extensão do UNIPAM**. Patos de Minas: UNIPAM, n. 7, vol. 1: 167-179, 2010.

COSTA, C.R.; OLIVI, P. A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de Avaliação. **Química Nova**, v. 31, n. 7, p. 1820-1830, 2008.

ROCHA, C. A. M. et al. Studies of micronuclei and other nuclear abnormalities in red blood cells of *Colossoma macropomum* exposed to methylmercury. **Genetics and molecular biology**, v. 34, n. 4, p. 694-7, 2011.

DUFECH, A.P.S. **Uso de assembleia de peixes como indicadores de degradação ambiental nos ecossistemas aquáticos de delta do rio Jacui, RS.** 2009. 2013 f. Tese (Doutorado em Biologia Animal) - Instituto de Biociência, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2009.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations, **The State of World Fisheries and Aquaculture (SOFIA)**. Rome, p. 112, 2012. Disponível em: <http://www.fao.org/docrep/016/i2727e/i2727e.pdf>. (Acesso em: 20 mar. 2015).

FENECH, M. The *in vitro* micronucleus technique. **Mutation Research**. v.455, p.81-95, 2000.

FERRARO, M. **Avaliação de três espécies de peixes – *Rhamdia quelen*, *Cyprinus carpio* e *Astyanax bimaculatus*, como potenciais bioindicadores em sistemas hídricos através dos ensaios: Cometa e dos Micronúcleos.** 2009. 189 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas área de concentração Genética) - Curso de Pós-Graduação em Genética, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

FERRARO, M.V.M. et al. Mutagenic effects of tributyltin and inorganic lead (Pb II) on the fish *H. malabaricus* as evaluated using the comet assay and the piscine micronucleus and chromosome aberration tests. **Genetics and Molecular Biology**, v. 27, n. 1, p. 103-107, 2004.

FLYNN, M.N. et al. Relação peso-comprimento de populações de *Mugil curema* (Valenciennes, 1836) dos canais de Piaçaguera e Bertioga, São Paulo. **Revista de Brasileira Zoociências**, Juiz de Fora, 2010.

FRENZILLI, G.; NIGRO, M.; LYONS, B.P. The Comet assay for the evaluation of genotoxic impact in aquatic environments. **Mutation Research/Reviews in Mutation Research**, v. 681, n. 1, p. 80-92, 2009.

GALINDO, B.A. et al. Genotoxic Effects of Aluminum on the Neotropical Fish *Prochilodus lineatus*. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 212, n. 1-4, p. 419-428, 2010.

GALLI, A. J. B.; MONTEZUMA, M. C. **Alguns aspectos da utilização do herbicida glifosato na agricultura**. Ed. ACADCOM, 2005. Disponível em: <<http://www.monsanto.com.br/roundup/glifosato/indice.asp>>. (Acesso em: 21 mar. 2015).

GALLI, A. Utilização de técnicas eletroanalíticas na determinação de pesticidas em alimentos. **Química nova**. v.29, n. 1, p. 105- 112, 2006.

GIARRIZZO, T. et al. Weight-length relationships for intertidal sh fauna in mangrove estuary in Northern Brazil. **Journal Applied to Ichthyology**, v.22, p-325-327, 2006.

GIL, A. C. **Métodos e técnicas de pesquisa social**. 6. ed. São Paulo: Atlas, 2010.

GOULDING, M. Flooded forests of the Amazon. **Science Amazon**, v.1, p. 113-120, 1993.

GOULDING, M.; CARVALHO, M.L. Life history and management of the tambaqui (*Colossoma macropomum*, Characidae) an important Amazonian food fish. **Arquivo Zoológico**, v. 1, p. 107-133, 1982.

GRISA, F.T.; ORTIZ, K.S.; GEREMIAS, D. Avaliação da contaminação por organofosforados em águas superficiais no município de Rondinha - Rio Grande do Sul. **Química. Nova**, v. 31, n. 7, p. 1631-1635, 2008.

GRISOLIA, C.K et al. Genotoxicity evaluation of domestic sewage in a municipal wastewater treatment plant. **Genetics and molecular Biology**, v. 28, n. 2, p. 334-338, 2005.

GRISOLIA, C.K. **Agrotóxicos: mutações, câncer e reprodução**. Brasília: UnB, 2005. 392 p.

GRISOLIA, C.K; CORDEIRO, C.M.T. Variability in micronucleus induction with different mutagens applied to several species of fish. **Genetics and Molecular Biology**, v. 23, n. 1, p. 235-239, 2000.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Sistema Geodésico Brasileiro. Disponível em: <<http://ibge.gov.br/home/geociencias/geodesia/sgb.shtm>>. (Acesso em: 1 abr. 2015).

JURADO, A. et al. Herbicides: the Face and the Reverse of the Coin. An in Vitro Approach to the Toxicity of Herbicides in Non-Target Organisms. In: KORTEKAMP, A. (Ed.) **Herbicides and Environment**. p. 3-44, 2011.

KOCHHANN, D. et al. Linking Hematological, Biochemical, Genotoxic, and Behavioral Responses to Crude Oil in the Amazon Fish *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1816). **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 65, n. 2, p. 266-275, 2013.

LEE, R.F.; STEINERT, S. Use of the single cell gel electrophoresis/comet assay for detecting DNA damage in aquatic (marine and freshwater) animals. **Mutation Research/Reviews in Mutation Research**, v. 544, n. 1, p. 43-64, 2003.

LIMA, C.A.R.M.A.; GOMES, L.C. **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. Santa Maria: Editora UFSM, 2005. 349 p.

LIMA, M. **Levantamento dos pontos críticos e aplicação de boas práticas de manejo na base de piscicultura Carlos Eduardo Matiaze**. 2014. 77 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia de Pesca)-Fundação Universidade Federal de Rondônia, Presidente Médici, 2014.

LOPES, R.B. **Análise ecotoxicológica dos xenobióticos Triclofon e Diflubenzuron empregados na aquicultura continental**. 2005. 104 f. Tese (Doutorado em Ciências, área de concentração Energia Nuclear na Agricultura) - Universidade de São Paulo, Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Piracicaba-SP, 2005.

MALINS, D.C.; OSTRANDER, G.K. Perspectives in aquatic toxicology. **Rev. Pharmacol. Toxicol.** 31: 371-399, 1991.

MERSCH, J.; BEAUVAIS, M. N; NAGEL, P. Induction of micronucleus in haemocytes and gill cells of zebra mussels, *Dreissena polymorpha*, exposed to clastogens. **Mutation Research**, 371: 47-55, 1996.

MORAIS, L.S.R. **Desenvolvimento e validação de métodos para determinação de agrotóxicos em água e solo das áreas de recarga do aquífero Guarani, na região das nascentes do Rio Araguaia**, MT/GO. 2009. 157 f. Tese (Doutorado em Ciências). Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Química, Campinas, SP. 2009.

MPA. Ministério da Pesca e Aquicultura. **Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura**. Brasília. DF. 2012 Disponível em: <<http://www.mpa.gov.br/mpa/seap/Jonathan/mpa3/docs/anu%20da%20pesca%20completo2.pdf>>. (Acesso em: 20 mar. 2015).

MPA. **Programa pesca e aquicultura (Plano Safra)**, 2013. Disponível em: <<http://www.mpa.gov.br>>. (Acesso em: 20 mar. 2015).

NACCI, D.; CAYULA, S.; JACKIM, E. Detection of DNA damage in individual cells from marine organisms using the single cell gel assay. **Aquatic Toxicology**, v. 35, p.197-210, 1996.

NESKOVIC, N.K et al. Biochemical and histopathological effects of glyphosate on carp (Cyprinus carpio). **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 56, p. 295-302, 1996.

OSTRENSKY, A.; BOEGER, W.A.; CHAMMAS, M.A. Aquicultura no Brasil: o desafio é crescer. Brasília: **Infopesca**, 2008. 304 p.

PANDRANGI, R. et al. Alkaline single cell (comet): assay and genotoxicity monitoring using bullhead and carp. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, v. 26, p. 345-356, 1995.

PEIXOTO, F. Comparative effects of the Roundup and glyphosate on mitochondrial oxidative phosphorylation. **Chemosphere**, v. 61, p. 1115–1122, 2005.

QASEM, J.R. Herbicides Applications: Problems and Considerations. In: KORTEKAMP, A. (Ed.). **Herbicides and Environment**. p. 643-664, 2011. Disponível em: <<http://www.intechopen.com/books/herbicides-and-environment/herbicides-applications-problems-andconsiderations>>. (Acesso em: 21 mar. 2015).

RABELLO-GAY, M.N. et al. Mutagênese, teratogênese e carcinogênese: métodos e critérios de avaliação. Sociedade Brasileira de Genética. **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, 1991.

RAMSDORF, V. **Utilização de duas espécies de Astyanax (Astyanax sp B e A. altiparanae) como bioindicadores de região contaminada por agrotóxico (Fazenda Cangüiri – UFPR)**. 2007. 127 f. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas. Universidade Federal do Paraná. Curitiba. 2007.

RANZANI-PAIVA et al. **Métodos para análise hematológica em peixes**. Maringá: Eduem, 2013. 140 p.

SABIK, H.; JEANNOT, R.; RONDEAU, B. Multiresidue methods using solid-phase, extraction techniques for monitoring priority pesticides, including triazines and degradation products, in ground and surface waters. **Journal of Chromatography A**, v. 885, p. 217-236, 2000.

SAINT-PAUL, U.; SOARES, M.G. Ecomorphological adaptation to oxygendeficiency in amazon floodplain by Serrasalmid fish of thegenus Mylossoma. **Journal of Fish Biology**., v. 32, p. 231-236, 1988.

SAPKOTA, A. et al. Aquaculture practices and potential human health risks: current knowledge and future priorities. **Environment international**, v. 34, n. 8, p. 1215-1226, 2008. SEBRAE. **Projeto de capacitação de piscicultores em Rondônia**. 2011. Disponível em: <www.agenciasebrae.com.br>. (Acesso em: 20 mar. 2015).

SNA. Piscicultura é tratada como novo agronegócio de Rondônia ao crescer 300% em 3 anos, 2014. Disponível em: < <http://sna.agr.br/>>. (Acesso em: 20 mar. 2015).

SOUZA, T.D.A.S.; FONTANELLI, C. S. Micronucleus test and observation of nuclear alterations in erythrocytes of Nile tilapia exposed to waters affected by refinery effluents. **Mutation Research**, v. 605, p. 87-93, 2006.

TAVARES-DIAS et al. Infestação de *Perulernaea gamitanea* (Copepoda:Lernaeidae) em tambaqui. **II Congresso Brasileiro de produção de peixes nativos de água doce**, Cuiabá, 2009. Disponível em: < <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/67807/1/AP-2009-infestacao-perulernaea.pdf>>. (Acesso em: 2 jun. 2015).

TAVARES-DIAS, M.; DE MORAES, Flávio Ruas. **Hematologia de peixes teleósteos**. Marcos Tavares-Dias, 2004.

TOMITA, R.Y.; BEYRUTH, Z. Toxicologia de agrotóxico em ambiente aquático. **Biológico**, v. 64, n. 2, p. 135-142, 2002.

UDROIU, I. The micronucleus test in piscine erythrocytes. **Aquatic Toxicology**, v. 79 p. 201-204, 2006.

VALENTI, W.C. Aquicultura sustentável. In: Congresso de Zootecnia, 12º, Vila Real, Vila Real: Associação Portuguesa dos Engenheiros Zootécnicos. **Anais**, p.111-118. Portugal, 2002.

VARGAS, L. **Sintomas e diagnose de toxicidade herbicida na cultura da maçã**. Embrapa Uva e Vinho, 2003.

VAZZOLER, A. E. DE M. **Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática**. Maringá, EDUEM, 1996. 169p.

VICARI, T. **Avaliação do efeito mutagênico de duas concentrações (0,075µg/g E 0,75 µg/g) do metilmercúrio em *Hoplias malabaricus* (PISCES) através dos ensaios cometa e micronúcleo**. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Biológicas, Departamento de Genética, Curitiba, 2009.

WEATHERLEY, R.C.A. et al. Submucous cleft palate: Its Incidence, Natural History, and Indications for Treatment. **Plastic and reconstructive surgery**, v. 49, n. 3, p. 297-304, 1972.

APÊNDICE A

ENTREVISTA ESTRUTURADA SOBRE APLICAÇÃO DE AGROTÓXICO EM PISCICULTURA

1. Perfil da piscicultura

1.1 Tamanho da propriedade?

a) Lâmina de água:

b) Terra:

1.2 A água que abastece a piscicultura vem de onde?

a) () nascente da propriedade

b) () nascente de outra propriedade

c) () rio que passa pela propriedade

1.3 Qual é o tipo é o sistema de abastecimento dos tanques de piscicultura?

a) () individual

b) () cascata

1.4 Qual estocagem de cada tanque?

1.5 Quantas vezes por dia são alimentados os peixes, e que horas?

1.6 Qual a quantidade (Kg) de ração é oferecida por vez aos peixes por alimentação?

2. USO DO AGROTÓXICO NA PISCICULTURA

2.1 Utiliza herbicida em sua piscicultura?

a) () sim b) () não

Qual o tipo de herbicida (marca) ?

2.2 Este herbicida é aplicado diretamente nos tanques de piscicultura?

a) () sim b) () não

Se não, onde?

2.3 Qual o objetivo de se utilizar o herbicida na piscicultura?

2.4 Através de qual indicação você utiliza estes produtos?

a) () Técnico b) () Amigo c) () Propaganda d) () Indicação da loja e) () vendedor

2.4 Que aparelho é usado para aplicação?

a) () Trator b) () Pulverizador Costal c) () Tração Animal d) () Outra

2.5 Que dosagem você usa?

2.6 Quantas vezes é aplicado no ano?

2.6 Há quanto tempo você o utiliza em sua piscicultura?

2.8 Quando é realizada a aplicação observa-se alguma diferença no comportamento dos peixes?

2.9 Quando é feita a aplicação observa-se alguma diferença na água?

3. DEMAIS CULTURAS DE SUBSISTÊNCIA NA PROPRIEDADE

3.1 Em volta da piscicultura são realizadas outras atividades para subsistência da propriedade?

a) () Sim b) () Não

Se sim, quais?

a) () agropecuária

b) () lavoura. Qual?

3.2 Utiliza outros tipos de agrotóxicos em sua propriedade, para manejo das outras atividades de subsistência?

a) () sim b) () não

se sim, quais?

3.3 Qual o objetivo de se utilizar o agrotóxico na lavoura?

3.4 Através de qual indicação você utiliza estes produtos?

a) () Técnico b) () Amigo c) () Propaganda d) () Indicação da loja d) () vendedor

3.4 Que aparelho é usado para aplicação?

a) () Trator b) () Pulverizador Costal c) () Tração Animal d) () Outra

3.5 Que dosagem você usa?

3.6 Quantas vezes é aplicado no ano?

3.6 Há quanto tempo você o utiliza em sua propriedade?

3.7 Quando chove, a água proveniente de enxurrada vai para a represa que abastece os tanques de piscicultura?

a) () sim b) () não

3.8 Quando chove, a água proveniente de enxurrada vai os tanques de piscicultura?

a) () sim b) () não

APÊNCIDE B

Eritrócitos de tambaqui (*C. macropomum*) contendo micronúcleo, coloração Panótico, aumento 100x.

